OCHRATOXINES ET CONSÉQUENCES EN TOXICOLOGIE

E.E. CREPPY*, I. BAUDRIMONT et A.M. BETBEDER

Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène Appliquée.
Université de Bordeaux II, 3 ter Place de la Victoire 33000 Bordeaux

RÉSUMÉ - L'ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine produite par des moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium*. C'est un contaminant alimentaire retrouvé essentiellement dans les céréales (blé, maïs, seigle, orge), mais aussi dans les abats et les viandes d'animaux nourris avec des aliments contaminés, ainsi que dans le café, le cacao, les haricots et les fruits secs. Après avoir éliminé toutes les causes possibles l'OTA est maintenant considérée comme l'agent causal principal de la néphropathie endémique des Balkans (NEB) qui sévit dans les zones rurales des Balkans, (Bulgarie, Croatie, Slovénie, Bosnie, Roumanie). Il s'agit d'une tubulonéphrite interstitielle d'évolution lente, très souvent associée à des tumeurs du tractus urinaire. En plus de la néphrotoxicité et de la cancérogénicité, l'OTA est immunosuppressive, génotoxique, et tératogène, elle perturbe également le métabolisme glucidique et la coagulation sanguine. L'OTA est métabolisée in vitro et in vivo par plusieurs sous-familles de cytochromes P-450 en plusieurs métabolites dont le [4R]-4-hydroxyochratoxine A qui présente une cytotoxicité analogue à celle de l'OTA et se montre aussi immunosuppressive in vivo. L'OTA doit son importance actuelle sur le plan de la santé publique et sur le plan économique à son implication dans la NEB, et aussi au fait qu'elle a été retrouvée dans le sang de personnes vivant en Allemagne et dans d'autres pays d'Europe, en France, en Scandinavie, au Canada, au Japon et en Afrique du Nord. La toxicité aiguë et la toxicité chronique de l'OTA sont liées directement ou indirectement à sa propriété d'inhiber la synthèse des protéines par compétition avec la phénylalanine dans les réactions catalysées par la phénylalanyl-tRNA synthétase. Les effets cytotoxiques des ochratoxines sont aussi en partie liés aux processus oxydatifs, à la mobilisation du calcium intracellulaire, à l'inhibition de la respiration mitochondriale et à l'inhibition de la synthèse d'ATP. A cause de la difficulté à corréler les effets potentiels de l'OTA avec sa présence dans le sang humain, tous les effets observés expérimentalement chez l'animal n'ont pas encore pu être mis en évidence chez l'homme. Mais les effets toxiques les plus à craindre sont la néphrotoxicité, la tératogenèse et la cancérogenèse.

MOTS-CLÉS - Mycotoxines, aliments, ochratoxines, néphropathie endémique des Balkans, génotoxicité, cancérogénicité.

INTRODUCTION

De très nombreuses espèces fongiques produisent, dans les conditions de température et d'humidité optimales, des substances qui présentent de multiples activités. Parmi ces substances, les mycotoxines dont les effets toxiques sur l'Homme et les animaux sont connus, démontrés ou fortement suspectés, sont produites par cinq genres

* Pour les correspondances.

majeurs de moisissures: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* et *Claviceps*, en plus du genre *Gibberella* qui produit une mycotoxine dont un métabolite a été autrefois utilisé comme anabolisant du bétail, (Van der Merwe *et al.*, 1965a, b; Scott *et al.*, 1972; Krogh, 1987; Steyn, 1993).

Ces mycotoxines sont regroupées dans quelques grandes familles plus ou moins homogènes sur le plan structural: aflatoxines, trichothécènes, ochratoxines, fumonisines, ergotoxines, citréoviridines et mycotoxines trémorgéniques.

Parmi les maladies humaines ou animales liées à la présence de ces mycotoxines dans les aliments d'origine végétale, les hépatocarcinomes, l'aleucie toxique alimentaire, la néphropathie endémique des Balkans et l'encéphalomalacie équine respectivement en relation avec les aflatoxines, les trichothécènes, les ochratoxines et les fumonisines sont les plus connues et surtout les plus redoutées actuellement. Malgré de très nombreux travaux depuis les années 60, la pathogénie et l'épidémiologie des maladies liées aux mycotoxines comportent encore quelques points à élucider. Les problèmes posés par les mycotoxicoses à la santé publique dans le monde (plus dans les pays pauvres que dans les pays riches) sont probablement plus graves que ce qui est globalement perçu. En effet, en plus des effets toxiques chroniques généraux, de nombreuses mycotoxines sont génotoxiques, mutagènes, et/ou cancérogènes, IARC 1982, 1993, IPCS 1990.

L'ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine produite par des moisissures des genres *Aspergillus* et *Penicillium* (van der Merwe *et al.*, 1965a, b). Elle est retrouvée essentiellement dans les céréales (blé, maïs, seigle, orge), mais aussi dans les abats et les viandes d'animaux nourris avec des aliments contaminés, ainsi que dans le café, le cacao, les haricots et les fruits secs etc. (Krogh, 1977, 1987).

L'importance de l'OTA sur le plan de la santé publique et sur le plan économique va grandissant à cause de son implication dans la Néphropathie Endémique des Balkans, (NEB) une tubulonéphrite interstitielle chronique souvent associée au stade terminal à des tumeurs pelviennes urétrales et vésicales, (Krogh, 1974; Chernozemsky *et al.*, 1977; Petkova-Bocharova *et al.*, 1988) et depuis qu'elle a été retrouvée dans le sang de personnes vivant en Allemagne et dans d'autres pays d'Europe, en Scandinavie, au Canada et au Japon (Bauer & Gareis, 1987; Kuiper-Goodman & Scott, 1989; Breitholtz *et al.*, 1991; Creppy *et al.*, 1993; Kawamura *et al.*, 1993).

Le pourcentage du nombre de personnes OTA positives est d'environ 22% en France contre 40 à 60% dans d'autres pays d'Europe et les taux sériques chez l'homme sont en moyenne légèrement inférieurs en France, (Creppy *et al.*, 1993) à ceux qui ont été trouvés dans les pays d'Europe du Nord et dans les Balkans. Cela démontre que le problème de l'ochratoxicose animale et humaine n'est pas circonscrit aux pays balkaniques, mais concerne tous les pays d'Europe.

Nos résultats obtenus en Tunisie et en Algérie, (Achour *et al.*, 1993; Bacha *et al.*, 1993; Khalef *et al.*, 1993) concernant l'ochratoxicose humaine et animale montrent que la contamination par l'OTA concerne le monde entier.

En plus de la néphrotoxicité et de la cancérogénicité, l'OTA est immunosuppressive, (Haubeck *et al.*, 1981; Prior & Sisodia, 1982; Creppy *et al.*, 1982, 1983a; Dwivedi & Burns, 1984; Holmberg *et al.*, 1988; Lea *et al.*, 1989; Wiger & Størmer 1990; Størmer & Lea 1995) génotoxique, (Creppy *et al.*, 1985; Pfohl-Leszkowicz *et al.*,

1991, 1993a, b, c) et tératogène, (Hayes *et al.*, 1974; Gilani *et al.*, 1978; Arora & Frölen, 1981; Mayura *et al.*, 1984, 1989), elle perturbe également le métabolisme glucidique (Suzuki & Satoh, 1973) et la coagulation sanguine (Galtier *et al.*, 1979; Gupta *et al.*, 1979; Pohland *et al.*, 1992; Størmer, 1992).

L'OTA se lie aux protéines sanguines. Elle est métabolisée in vitro et in vivo par plusieurs sous-familles de cytochromes P-450 en plusieurs métabolites dont le [4R]-4-hydroxyochratoxine A (Størmer *et al.*, 1981; Ueno, 1985; Chakor *et al.*, 1988; Castegnaro *et al.*, 1989; Hennig *et al.*, 1991; Størmer, 1992; Fink-Gremmels *et al.*, 1993), qui présente une cytotoxicité analogue à celle de l'OTA (Creppy *et al.*, 1983b) et se montre aussi immunosuppressive in vivo (Creppy *et al.*, 1983a).

Le problème de la toxicité de l'ochratoxine A (OTA), qui contamine la chaîne alimentaire de l'homme et des animaux devient de plus en plus complexe depuis que des analogues naturels toxiques de l'OTA ont été découverts (Hadidane *et al.*, 1992) et que l'ochratoxine alpha considérée comme non toxique s'est révélée génotoxique (Föllmann *et al.*, 1995).

La présence de l'ochratoxine A dans l'alimentation et le sang des personnes en France, en Europe et ailleurs dans le monde, sans pathologie directement associée contrairement à ce qui se passe dans les Balkans, soulève plusieurs questions - quelles sont les conséquences réelles de l'ochratoxicose chez l'homme? - allons nous assister à une augmentation des cas de néphropathie et de tumeurs du tractus urinaire en relation avec l'ochratoxine ailleurs que dans les Balkans?

A la lumière des résultats obtenus sur le terrain et en laboratoire, les auteurs s'efforceront d'indiquer les conséquences prévisibles de l'exposition prolongée à l'ochratoxine A.

I - ORIGINE ET PRODUCTION

L'ochratoxine A (OTA) a été isolée pour la première fois en Afrique du Sud dans des cultures d'*Aspergillus ochraceus*, au cours d'un "screening" à la recherche d'antibiotique (van der Merwe *et al.*, 1965). En laboratoire, de nombreuses moisissures cultivées en milieu liquide ou solide ont produit de l'OTA. Ce sont tout d'abord différentes souches d'*Aspergillus*, (Tableau 1a). La souche *Aspergillus ochraceus* n° NRRL 3174 cultivée en milieu liquide ou solide est capable de produire des analogues naturels de l'OTA dans lesquels la phénylalanine est remplacée par un autre acide aminé. Plusieurs de ces analogues ont déjà été isolés et identifiés (Hadidane *et al.*, 1992). Ils présentent une cytotoxicité variable en fonction de l'acide aminé dont ils dérivent. (Creppy *et al.*, 1983c). Des souches de *Penicillium* (dont *Penicillium verrucosum*) sont également capables de produire de l'OTA dans des conditions de température qui se retrouvent dans les pays tempérés du nord, (Deutsche Forschungsgemeinschaft 1990) (Tableau 1b).

La production de l'OTA et des analogues dépend essentiellement de deux facteurs, l'humidité ambiante et la teneur en eau du support solide d'une part et la température d'autre part. Ces toxines sont des métabolites secondaires dont la production ne commence qu'après plusieurs jours de prolifération des moisissures. *A.*

Tableau 1a: Principales souches de moisissures qui produisent de l'ochratoxine A*

Familles	**Espèce**
Aspergillus Micheli	
Groupe *Aspergillus ochraceus*	
	Asp. sulphureus (Fres.) Thom and Church
	Asp. sclerotiorum Huber
	Asp. alliaceus Thom and Church
	Asp. melleus Yukawa
	Asp. ochraceus Wilhelm
	Asp. ostianus Wehner
	Asp. petrakii Vörös
Penicillium Monoverticillata:	
Penicillium frequentans	
	P. purpurescens Sopp
Penicillium Asymmetrica-Lanata:	
P. commune	
	P. commune Thom
Penicillium Asymmetrica-Fasciculata	
P. verrucosum	
	P. viridicatum Westling
	P. palitans Westling
P. cyclopium	
	P. cyclopium Westling
	P. aurantiogriseum
Penicillium Biverticillata-Symmetrica	
P. purpurogenum	
	P. variabile Sopp

Tableau 1b: Souches de moisissures productrices d'ochratoxine A qui produisent par ailleurs d'autres toxines néphrotoxiques ou cohabitent avec des moisissures productrices de mycotoxines majeures (aflatoxines, acide penicillique, citrinine)

Moisissures et co-production	**Toxines co-produites**
P. purpurescens	Citrinine
P. commune	Acide penicillique,
P. aurantiogriseum, P. viridicatum	Citrinine, acide penicillique, viomelléine
Aspergillus sulphureus	Acide penicillique
Asp. ochraceus	Acide penicillique, viomelléine
Asp. petrakii	Acide penicillique
Moisissures et co-habitation	
Asp. ochraceus et *Asp. flavus*	Aflatoxines
Asp. ochraceus et divers *Penicillium*	Citrinine, patuline, acide cyclopiazonique, acide penicillique,acide kojique, etc....

* Données sélectionnées à partir du rapport du Deutsche Forschungsgemeinschaft (1990)

ochraceus peut produire plus de 400mg/kg de maïs dans les conditions de laboratoire. Mais les concentrations les plus élevées qu'on ait trouvées dans des aliments contaminés sont de 28 µg/kg en Europe et 48 µg/kg en Afrique du Nord (Krogh, 1987; Van Egmond, 1991; Maaroufi *et al.*, 1995)

Quelquefois les moisissures qui produisent l'ochratoxine A peuvent produire en même temps d'autres toxines ou cohabiter avec d'autres moisissures qui produisent des toxines différentes, telles que la citrinine produite par certains *Penicillium* (Sansing *et al.*, 1976; Kanisawa, 1984) ou les aflatoxines produites par *Aspergillus flavus* (Steyn, 1993). Ces toxines et bien d'autres présentent des synergies avec l'OTA. Ce qui peut poser des problèmes quant à l'attribution des effets toxiques observés.

II - ÉTIOLOGIE DES INTOXICATIONS

Dans certaines régions des Balkans (notamment la région de Kaniza) les personnes atteintes de néphropathie et/ou de tumeurs du tractus urinaire ont de l'OTA dans le sang (de 2 ng à 40 ng/ml) et des concentrations d'OTA plus élevées dans la nourriture que dans les autres zones (Chernozemsky *et al.*, 1977; Ceovic *et al.*, 1976; Plestina *et al.*, 1990; Petkova-Bocharova *et al.*, 1991). On trouve aussi plus d'OTA dans le sang des personnes saines des régions infestées par les moisissures toxinogènes que dans le sang des populations saines des autres régions. La néphropathie observée chez ces personnes a beaucoup de ressemblance avec celle observée chez le porc suite à une contamination naturelle des aliments par des moisissures productrices d'ochratoxines, ou reproduite expérimentalement chez le porc par ajout d'OTA pure à la nourriture (Krogh, 1977; Madsen *et al.*, 1982; Mortensen *et al.*, 1983). Pour toutes ces raisons et après avoir éliminé toutes les autres causes possibles, l'OTA est considérée comme l'agent causal principal de cette maladie, la néphropathie endémique des Balkans (NEB) qui est une tubulonéphrite interstitielle d'évolution lente, très souvent associée à des tumeurs du tractus urinaire (Chernozemsky *et al.*, 1977; Petkova-Bocharova *et al.*, 1988).

Dans tous les pays où l'OTA a été cherchée, elle a été trouvée aussi bien dans l'alimentation (céréales, fruits secs, haricots, café, cacao, bière, etc.) que dans le sang humain et celui des animaux tels que porcins et volailles (Krogh, 1987; Kuiper-Goodman & Scott, 1989), alors que chez les digastriques seules de très faibles traces d'OTA sont détectées en plus de la partie isocoumarinique appelée OTalpha qui provient du clivage de l'OTA par des bactéries du tube digestif de ces herbivores.

L'OTA a été retrouvée dans le lait de femme en Italie (Micco *et al.*, 1991) et dans le lait de vache. Ces deux aliments constituent donc une source de contamination pour les enfants en bas âge.

Plusieurs données permettent de penser que les analogues de l'OTA participent également à l'intoxication, car les effets toxiques sont toujours plus sévères quand les animaux sont nourris avec des aliments moisis que lorsqu'ils reçoivent la même quantité d'OTA pure dans leur ration (Madsen *et al.*, 1982).

Bien qu'on n'ait pas pu démontrer le lien direct de cause à effet entre l'OTA dans l'alimentation, dans le sang humain et des cas de néphropathie dans les pays d'Eu-

rope autres que les Balkans, il est toujours possible de montrer que lorsque la prise journalière d'OTA est calculée sur les bases des concentrations trouvées dans les aliments et la ration type d'une population donnée, la concentration sanguine d'OTA reflète les niveaux de contamination des aliments (Kuiper-Goodman & Scott, 1989; Breitholtz *et al.*, 1991)

Une étude récente effectuée en Tunisie englobant des patients atteints d'une néphropathie interstitielle chronique et des témoins non-malades a montré que dans plus de 90% des cas les taux sanguins d'OTA étaient en rapport avec les taux de contamination des aliments chez les malades. Ces taux étaient significativement plus élevés que ceux des témoins ($p<0,001$), 16ppb dans la nourriture et 1,2ng/ml de sang en moyenne contre >200 ppb en moyenne et > 50 ng/ml de sang en moyenne (Maaroufi *et al.*, 1995)

Cette étude montre aussi que les patients qui surveillent leur alimentation et évitent les aliments susceptibles d'être contaminés voient leur taux sanguins d'OTA baisser. Tous ces éléments sont en faveur d'une origine presque exclusivement alimentaire de l'intoxication par l'ochratoxine A. Mais un cas d'intoxication par inhalation a été décrit en Italie où des paysans ont présenté une insuffisance rénale aiguë après avoir respiré des spores d'*Aspergillus ochraceus* dans un grenier resté fermé pendant deux ans (Di Paolo *et al.*, 1993). Il n'est donc pas impossible que des personnes puissent être intoxiquées par la manutention de céréales contaminées par des moisissures productrices d'ochratoxine, comme cela a été décrit pour l'aflatoxine B1 chez des dockers (Baxter *et al.*, 1981).

III - ABSORPTION, DISTRIBUTION DE L'OCHRATOXINE A

A/ Absorption et fixation aux protéines sanguines

Il est utile de rappeler la structure de l'OTA, qui est l'analogue structural de la L-β-phénylalanine couplée à une 7-dihydroisocoumarine chlorée en 5 (van der Merwe *et al.*, 1965). Le chlore jouerait un rôle important dans la toxicité par son électronégativité. En perdant son chlore l'OTA perd en très grande partie sa cytotoxicité, car semble-t-il OTB qui est le dérivé non-chloré de l'OTA franchit moins bien les bio-membranes et agit moins bien au niveau cellulaire (Størmer *et al.*, 1985; Roth *et al.*, 1989). L'OTA est un acide faible qui en milieu acide est plutôt soluble dans les solvants organiques et donc lipophile, et en milieu alcalin soluble dans l'eau. L'OTA est donc très bien absorbée dans l'estomac. Théoriquement elle devait être moins bien absorbée dans le jéjunum et dans l'intestin. Mais Kumagai et Aibara (1982) ont montré qu'il n'en est rien. En effet même en présence de concentrations plasmatiques d'OTA plus élevées que les concentrations intestinales, la toxine passe préférentiellement de l'intestin vers le sang. De plus, il y a un cycle entérohépatique qui ramène sans cesse vers l'intestin de l'OTA native (Roth *et al.*, 1988), des conjugués à l'acide glucuronique, au sulfate, et sans doute au glutathion. Ces conjugués sont normalement hydrolysés par l'équipement enzymatique de la flore intestinale et réabsorbés rapidement, ce qui conditionne un temps de demi-vie extrêmement long dans l'organisme. Les peptidases intestinales ou spécifiques à certains organes ou introduits dans l'organisme comme additifs alimentai-

res vont cliver une partie de l'OTA en OTalpha non toxique mais qui se révèle génotoxique et dont une partie reformerait de l'OTA.

L'ochratoxine A se lie à 90-95% aux protéines plasmatiques. L'affinité pour les protéines plasmatiques varie en fonction des espèces animales (Galtier *et al.*, 1981). C'est le facteur déterminant dans la demi-vie de l'OTA. L'OTA se lie à deux entités protéiques dans le plasma. L'albumine sérique avec une affinité de 1 x 10^6 M^{-1} et une protéine de masse molaire 20 000D, avec une affinité de 0,23 x 10^9 M^{-1} (Stojkovic *et al.*, 1984; Sigrid & Hult, 1989). Ce dernier site est considéré comme un site de forte affinité. C'est là que l'OTA se lie de préférence quand les concentrations plasmatiques sont faibles. Lors d'études sur culture cellulaire en présence d'albumine sérique les concentrations cytotoxiques d'OTA varient nettement en fonction du taux de sérum ajouté au milieu (Grosse *et al.*, 1995; Baudrimont *et al.*, 1995b).

B/ Transport rénal de l'ochratoxine A

Pour son transport intra rénal l'OTA emprunte la voie du succinate, (Ki =3,9 mM), celle du sulfate (Ki =1,2 mM), et celle du para aminohippurate (PAH), (Ki = 0,02 mM) (Ullrich, 1991). Plus tard nous avons montré en collaboration avec l'équipe du Professeur Ullrich que l'OTalpha emprunterait les mêmes voies, moins efficacement. L'OTA entre donc en compétition avec les anions organiques (dont le PAH) (Kane, 1986; Sokol *et al.*, 1988) pour son absorption rénale et aussi avec les cations organiques dont l'acétate de tétraéthylammonium. L'OTA utilise aussi le même transporteur que le probénécide. Les concentrations inhibitrices d'OTA sont de l'ordre de 3,2 x 10^5 M^{-1} à 1 x 10^4 M^{-1}. Tous ces systèmes de transport ont en général besoin d'ATP. Or l'OTA inhibe la production d'ATP au niveau mitochondrial in vitro pour des concentrations de l'ordre de 1 x 10^6 M^{-1} (Friis *et al.*, 1988; Sokol *et al.*, 1988; Jung & Endou, 1989).

Dans des cellules d'origine rénale l'OTA inhiberait les canaux chlore (Gelke *et al.*, 1993) de à 0.03 x 10^6 M^{-1}. Cette dernière propriété n'aurait peut être pas une importance déterminante dans la toxicité de l'OTA puisqu'elle siègerait au niveau postproximal. Et l'OT alpha et l'OTB non toxiques pourraient également inhiber les mêmes canaux, comme on l'a observé au niveau des transports rénaux de l'OTA, alors qu'elles n'ont pas d'effet cytotoxique (Creppy *et al.*, 1983b; Creppy *et al.*, 1986; Kane *et al.*, 1986b; Roth *et al.*, 1989; Gekle *et al.*,1993). De plus un tel blocage des canaux chlore induit une alcalinisation du milieu intracellulaire (Gekle *et al.*, 1993) qui devrait favoriser la solubilité dans l'eau de la molécule et son élimination.

C/ Distribution de l'ochratoxine A dans le rein, et les autres organes

Les études de biodistribution de l'OTA marquée ont révélé que le tissu rénal était le plus contaminé (Kane *et al.*, 1986a, b; Kane 1986; Mortensen *et al.*, 1983; Fuchs *et al.*, 1988a, b) en cas d'intoxication aiguë ou chronique. La distribution tissulaire dépend de l'âge. Les jeunes animaux ont plus d'OTA dans les tissus que les plus âgés pour la même dose ingérée et les femelles ont un peu plus d'OTA que les mâles, (Kane, 1986; Kane *et al.*, 1986a). Cela pourrait expliquer la plus grande susceptibilité des femelles à la néphrotoxicité de l'OTA.

Ces résultats ont été confirmés en utilisant de l'ochratoxine non marquée et en ne dosant que la toxine native par CLHP. Plus il y a d'OTA dans le sang plus il y en aura dans les tissus, surtout ceux qui ont une surcharge lipidique.

La contamination du rein de porc par l'OTA au seuil 25 µg/kg condamnait la carcasse à être jetée en Scandinavie et plus particulièrement au Danemark. On a donc recherché les moyens d'éliminer l'ochratoxine des reins chez le porc. Le premier moyen proposé était de donner une alimentation sans OTA. Dans ce cas on voit le taux de contamination tissulaire de l'OTA baisser progressivement pour tomber en dessous du seuil fatidique de 25 µg/kg en quelques semaines (Mortensen *et al.*, 1983) même si les lésions rénales persistent. Dans ce cas une relation lie le taux plasmatique et les concentrations tissulaires, respectivement, pour le rein et le foie, 0,0651 x concentration plasmatique; et 0,0346 x concentration plasmatique. Ce qui confirme bien que le rein est toujours plus contaminé que le foie.

IV - MÉCANISME D'ACTION ET MÉTABOLISME GLOBAL DE L'OCHRATOXINE A

A/ Mécanisme principal: Inhibition de la synthèse protéique

L'ochratoxine A inhibe la synthèse des protéines au niveau de l'étape de l'élongation en empêchant la charge de la phénylalanine sur son tRNA spécifique (Bunge *et al.*, 1978; Heller & Röschenthaler, 1978; Creppy *et al.*, 1979a, b). Cela entraîne l'inhibition de la synthèse des protéines dans les cultures de cellules et in vivo, (Creppy *et al.*, 1983b, 1984, 1986) et en conséquence celle des acides nucléiques (Meisner *et al.*, 1983). Ce mécanisme a été généralisé aux analogues de l'ochratoxine A possédant un autre acide aminé à la place de la phénylalanine, qui inhibent respectivement les réactions de l'aminoacyl-tRNA synthétase spécifique de l'acide aminé dont ils sont dérivés (Creppy *et al.*, 1983c). Depuis, des analogues naturels de l'OTA ont été découverts (Hadidane *et al.*, 1992). Ce qui confirme qu'en cas de contamination naturelle l'homme ou l'animal est exposé à un mélange d'ochratoxines avec en conséquence des synergies.

Ce pouvoir inhibiteur de l'OTA qui explique l'essentiel des effets toxiques, (Creppy *et al.*, 1980) n'épargne pas non plus certains enzymes qui interviennent dans sa propre métabolisation. Ainsi les taux des CYP-450 et ceux de l'aminopyrine déméthylase et de l'alanine hydroxylase sont abaissés par l'OTA (1,5 mg/kg pendant 15 jours), alors que les enzymes de la phase II du métabolisme des xénobiotiques ne seraient pas touchés (Galtier *et al.*, 1984).

B/ Production d'ochratoxine alpha

L'ochratoxine A est transformée au niveau intestinal et in vitro par des peptidases (dont la carboxypeptidase) en OTalpha (Pitout, 1969) non toxique mais dont la génotoxicité vient d'être démontrée (Föllmann *et al.*, 1995). Chez les bovins adultes toute l'OTA est ainsi clivée en OTalpha. Pour l'estimation de l'exposition à l'OTA, il serait sans doute intéressant de déterminer aussi le taux global d'OTalpha.

C/ Production des dérivés hydroxylés

En présence de NADPH et de microsomes de foie de porc, de rat et d'homme, l'OTA est métabolisée en composés hydroxylés, les 4[R] et 4[S]-4-hydroxyochratoxine A (Størmer *et al.*, 1981; Ueno, 1985; Oster *et al.*, 1991). Dans les mêmes conditions et avec des microsomes de lapin l'OTA donne la 10-hydroxyochratoxine A (Størmer *et al.*, 1983; Størmer, 1992).

Il a également été montré que l'OTA est substrat de la phénylalanine hydroxylase qui la transforme en partie en tyrosine-ochratoxine A (Creppy *et al.*, 1990). Ce dérivé est cytotoxique (Creppy *et al.*, 1983b) tout comme la 4[R]-4-hydroxyochratoxine A qui en plus est immunosuppressive (Creppy *et al.*, 1983a).

Les CYP-450 impliqués dans la formation des composés hydroxylés de l'OTA sont chez le rat le CYP-448 ou (CYP1A2) pour l'isomère R et le CYP2B1, pour l'isomère S. Chez le porc, les CYP-450 impliqués seraient CYP2B et CYP2C11 respectivement classés A2 et A3 (Ueno 1985; Galtier *et al.*, 1984; Castegnaro *et al.*, 1989; Hennig *et al.*, 1991; Fink-Gremmels *et al.*, 1993).

Chez l'homme il a été montré, en utilisant des CYP 450 humains spécifiques clonés dans des cellules, que ce sont les CYP 1A2, 2D6 et 3A4 qui interviennent essentiellement.

Dans le tissu particulier qu'est le testicule, la [4R]-4-hydroxyochratoxine A est détectée en réponse à l'exposition des rongeurs à l'OTA. Dans le même temps le taux de testostérone augmente fortement sans modification du taux de LH (Gharbi *et al.*, 1993).

Un métabolite plus lipophile que l'OTA et non identifié à ce jour a été trouvé dans les microsomes de foie de porc (Oster *et al.*, 1991).

L'implication du métabolisme de l'OTA dans sa néphrotoxicité a été analysée récemment par Delacruz et Bach (1990). De nombreuses données indiquent de plus en plus que le métabolisme de l'OTA est aussi impliqué dans sa génotoxicité (Suzuki *et al.*, 1986; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1993a, b, c; Grosse *et al.*, 1995).

Outre le polymorphisme génétique qui serait impliqué dans la métabolisation de l'OTA (Hietanen *et al.*, 1986; Castegnaro *et al.*, 1989) il est important de rappeler l'effet des inducteurs et des inhibiteurs des enzymes du métabolisme des xénobiotiques. Ainsi le phénobarbital et le méthylcholanthrène inducteurs de CYP-450 diminuent la toxicité de l'OTA car la valeur de la DL50 est augmentée (Moroï *et al.*, 1985; Chakor *et al.*, 1988). Cependant un traitement prolongé avec le phénobarbital et l'OTA entraîne un taux de tumeurs hépatiques accru chez la souris (Suzuki *et al.*, 1986). Ce qui signifie que certains des métabolites formés sous l'effet de cet inducteur sont moins toxiques que l'OTA mais restent génotoxiques et cancérogènes. Mais un ou plusieurs autres métabolites formés par d'autres voies métaboliques pourraient également être génotoxiques. C'est le cas de la tyrosine-OTA (Creppy *et al.*, 1990) qui n'a plus d'analogie structurale avec la phénylalanine et qui est toxique cependant par analogie de structure avec la tyrosine. Il faut rappeler que la phénylalanine n'a aucun effet protecteur contre les effets génotoxiques de l'OTA in vivo, alors qu'elle protège contre l'intoxication aiguë et empêche l'inhibition de la synthèse des protéines. Cela pourrait s'expliquer par l'absence d'analogie structurale avec les composés responsables des effets génotoxiques.

Le pipéronyl butoxyde augmente la toxicité de l'OTA en bloquant son métabolisme (Chakor *et al.*, 1988). Ce qui est une confirmation de la métabolisation de l'OTA par la voie des CYP 450 et des enzymes du microsome.

Il y a un si grand nombre de métabolites, que le problème est très complexe; (7 dans les hépatocytes de rat, pour l'ochratoxine A seule, Fink-Gremmels *et al.*, 1993) et peut être autant pour chaque analogue naturel. Et puis un dérivé non toxique peut cependant être génotoxique.

L'existence de dérivés glucuronoconjugués et sulfoconjugués est prouvée (Kane *et al.*, 1986a; Kane 1986) mais celle de conjugués au glutathion ou dérivés mercapturiques n'a pas été formellement prouvée même si l'apport de N-acétylcystéine diminue la génotoxicité qui pourrait être liée à ce genre de composé (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1993b).

Il apparaît donc clairement que la génotoxicité et la cancérogénicité de l'OTA sont fortement influencées par son métabolisme.

D/ Lipoperoxydation et autres voies oxydatives

En 1988, Rahimtula *et al.*, ont montré que l'OTA induisait la peroxydation lipidique en présence de NADPH et de traces de Fe^{3+} (Rahimtula *et al.*, 1988; Omar *et al.*, 1991). Cette lipoperoxydation peut être mesurée par la production de malondialdehyde (MDA) in vitro et de n-hexane in vivo. La première conséquence de ce mécanisme est la modification de la perméabilité membranaire et les lésions pouvant conduire à des nécroses.

La production par l'OTA de radicaux oxygénés suite à la lipoperoxydation est généralement contrecarrée par des antioxydants et des capteurs de radicaux libres tels que vitamine A et E, et la superoxyde dismutase associée à la catalase (Baudrimont *et al.*, 1994).

Les autres voies oxydatives impliquées jusqu'ici dans le métabolisme de l'OTA sont en relation avec la cooxydation durant la synthèse des prostaglandines. Pour cela, les inhibiteurs de la prostaglandine synthétase et de la cyclooxygénase ont été essayés d'une façon globale, in vitro et in vivo et ont apporté la preuve de l'existence d'une telle voie métabolique, notamment le piroxicam, un anti-inflammatoire non stéroïdique, (Carty *et al.*, 1980; Baudrimont *et al.*, 1995a).

E/ Ochratoxine A et lésions à l'ADN

Il a été prouvé que l'OTA était génotoxique (Creppy *et al.*, 1985; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1991, 1993a, b, c; Malaveille *et al.*, 1991).

Le métabolisme général de l'OTA, l'implication des voies métaboliques oxydatives dans ce métabolisme et les lésions à l'ADN sont liés d'une façon très complexe. Nous savons que les adduits à l'ADN induits par l'OTA sont réparés en grande partie en un à trois jours ou en une à trois semaines en fonction des organes et selon la dose administrée (Creppy *et al.*, 1985; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1993a, b, c).

F/ Ochratoxine A et régulation des gènes?

Le taux de méthylation de l'ADN est en relation avec la régulation et l'expression des gènes, comme le montrent de multiples données en relation avec l'étude d'un

certain nombres de cancérogènes, le 3-méthyl-4-diméthylaminobenzène, la nitrosomorpholine, le chlordane (Bedford & van Helden, 1987; Münzel *et al.*, 1991).

Chez l'homme, dans les cancers primitifs et dans les métastases l'ADN des cellules est généralement hypométhylé (Bedford & van Helden, 1987). Les oncogènes cHa-ras et Ki-ras sont hypométhylés dans les adénocarcinomes à la différence des tissus normaux adjacents. De la même façon le protooncogène c myc est hypométhylé après traitement par la nitrosomorpholine.

L'azacytidine peut entraîner une hypométhylation de l'ADN (Jones, 1984), qui lui permet de réactiver des gènes inactifs du chromosome X. L'hypométhylation globale de certains gènes peut s'accompagner de l'hyperméthylation de certaines régions bien particulières (De Bustro *et al.*, 1988; De Flora *et al.*, 1985)

D'un autre côté l'hyperméthylation serait responsable de l'inactivité des gènes répresseurs (Marshall, 1991). Si le gène MyoD qui code un facteur de transcription est hyperméthylé il est inactivé mais cela n'empêche pas la cellule de se multiplier et d'arriver éventuellement à l'immortalité (Jones *et al.*, 1990).

Dans le rein qui est le tissu où sont situées principalement les tumeurs causées par l'OTA on observe essentiellement une hyperméthylation (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1993c). Ceci est confirmé dans des cellules rénales en culture (Grosse *et al.*, 1995). Il y a aussi une hyperméthylation de l'ADN dans le testicule (Gharbi *et al.*, 1993) qui serait une cible potentielle. Dans les autres organes notamment dans le foie, le taux de méthylation de l'ADN a plutôt tendance à baisser. Et pourtant des tumeurs du foie ont été observées chez des souris après exposition à l'OTA (Kanisawa & Suzuki, 1978). Ainsi donc lorsque l'OTA entraîne une modification du taux de méthylation de l'ADN dans un sens comme dans l'autre, cela peut favoriser la survenue de tumeurs. Mais dans l'organe cible qu'est le rein, l'OTA entraîne une hyperméthylation et les tumeurs que l'on sait.

V - EFFETS PATHOLOGIQUES ET CONSÉQUENCES

A/ Intoxication aiguë

La toxicité aiguë de l'OTA varie beaucoup d'une espèce animale à l'autre et aussi en fonction du sexe et de la voie d'administration, (Tableau 2)

Il apparaît que de tous les animaux le porc et le chien sont les plus sensibles à l'OTA. Les rongeurs y sont nettement moins sensibles (Galtier *et al.*, 1974; Kanisawa *et al.*, 1977; Ngaha, 1985). Il n'y ■ pas eu de cas dûment prouvé d'intoxication aiguë par l'OTA chez l'homme.

B/ Intoxication subchronique et chronique

1/ Néphrotoxicité, mutagénicité et cancérogénicité

De nombreuses études de toxicité à court terme ont montré que l'ochratoxine A est néphrotoxique pour toutes les espèces monogastriques étudiées (Suzuki *et al.*, 1975; Elling, 1977; Berndt & Hayes, 1979; Elling *et al.*, 1985; Kane *et al.*, 1986a, b; Kane,

Tableau 2: Toxicité aiguë de l'ochratoxine A

Animal	DL_{50} (mg/kg poids)	Voie d'administration	Références
Souris femelle	22,00	i.p	Sansing et al., 1976
Souris mâle (Swiss)	51 - 68	orale	Chakor et al., 1988
Rat mâle	28 - 30,3	orale	Galtier et al., 1974, Kanisawa et al., 1977
Rat femelle	21,4	orale	Galtier et al., 1974
Rat mâle	12,6	i.p	Galtier et al., 1974
Rat femelle	14,3	i.p	Galtier et al., 1974
Cobaye femelle et mâle	8,1 - 9,1	orale	Thacker and Carlton, 1977
Pigeon	3,4	orale	Prior et al.,1976
Dinde	5,9	orale	Prior et al., 1976
Caille	16,5	orale	Prior et al., 1976
Truite	4,7	i.p	Doster et al., 1972
Chien (mâle) Beagle	<9 (dose totale)	orale*	Szczech et al.,1973a
Porc femelle	<6 (dose totale)	orale **	Szczech et al.,1973b

* Les trois chiens qui ont reçu 3mg/kg/jour sont morts en moins de 3 jours
** Les porcs qui ont reçu 2mg/kg/jour étaient moribonds [illegible] ont dû être sacrifiés en moins de 3 jours. De même ceux qui ont reçu 1mg/kg/jour ont dû être sacrifiés en moins de 6 jours.

1986; Krogh *et al.*, 1988; Kuiper-Goodman & Scott, 1989). Les effets néphrotoxiques sont toujours proportionnels aux doses de toxine administrée. Aux fortes doses les modifications suivantes ont été observées dans la fonction rénale, augmentation de l'urée sanguine, protéinurie modérée, glucosurie. Au niveau histopathologique une dégénérescence tubulaire a été invariablement observée qui siège de préférence au niveau des tubules proximaux. Cette lésion se traduit par un amincissement de la membrane basale et une enzymurie impliquant les enzymes de la bordure en brosse (γ-glutamyl transférase, (EC 2.3.2.2.), phosphatase alkaline, (EC 3.1.3.1.) et leucine aminopeptidase, (EC 3.4.1.2.)) et un enzyme lysosomal comme la N-acétyl-β-D-glucosaminidase, (EC 3.2.1.30.) ainsi que l'élimination dans les urines de la β-2-microglobuline (Krogh *et al.*, 1974; Szczech *et al.*, 1973a, b; Kanisawa & Suzuki, 1978; Kane *et al.*, 1986a, b). Une karyomégalie peut être observée dans les cellules des tubes contournés proximaux. Les effets ci-dessus cités sont induits par des doses généralement inférieures au mg/kg. Le foie n'est touché que pour des doses nettement supérieures. Ce qui indique que le rein est l'organe cible principal des ochratoxines.

L'OTA est sans doute néphrotoxique chez l'Homme aussi, elle est fortement impliquée dans la néphropathie endémique des Balkans (NEB), car elle est responsable de la néphropathie porcine tout à fait similaire à la néphropathie humaine (Krogh *et al.*, 1974, 1977; Kuiper-Goodman & Scott, 1989; Pohland *et al.*, 1992). L'OTA est également génotoxique et cancérogène chez les rongeurs et probablement chez l'homme

(Creppy *et al.*, 1985; Petkova-Bocharova *et al.*,1988; NTP 1989; Pfohl-Leszkowicz, 1991; Pfohl-Leszkowicz, 1993a, b, c).

Quand des biopsies rénales sont effectuées, elles révèlent des adduits à l'ADN qui comigrent en très grande partie avec les adduits à l'ADN obtenus expérimentalement chez la souris traitée par l'OTA (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1993a, b, c; Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 1993a, b).

L'OTA est actuellement classée dans le groupe 2B (Produits considérés comme cancérogènes possibles pour l'Homme) par le groupe de travail des monographies du Centre International de Recherches sur le Cancer (CIRC), IARC, 1993. Des études épidémiologiques révèlent que 48% des personnes atteintes de NEB présentent des tumeurs du tractus urinaire, (uretère, pelvis, vessie), (Stojanov *et al.*, 1977, 1978; Sostaric & Vukelic, 1991; Tanchev & Dorossiev, 1991; Vukelic *et al.*, 1991).

Il faut pour qu'une mycotoxine contaminant alimentaire soit reconnue cancérogène chez l'Homme, qu'elle remplisse les 5 conditions suivantes au moins:

- présence dans l'alimentation
- preuve de l'exposition humaine
- corrélation entre l'exposition et l'incidence du type de cancer
- caractérisation et reproductibilité des symptômes chez les animaux d'expérience
- similitude du mode d'action chez les modèles animaux et chez l'Homme.

Les recherches pour établir la corrélation entre l'exposition aux mycotoxines et les risques encourus, voire les pathologies induites se heurtent donc à des difficultés de deux ordres: celles liées aux modèles animaux et celles liées à l'extrapolation des résultats de l'animal à l'Homme.

L'ochratoxine A est de plus en plus retrouvée dans les prélèvements sanguins humains en Europe de l'Ouest, notamment en Allemagne, en Scandinavie, en France et en Afrique du Nord (Tunisie, Algérie). Dans ces derniers cas, une implication dans des néphropathies humaines semble exister. Un symposium international [redacted] tenté de faire le point sur cet aspect du sujet en juillet 1993 à Bordeaux (INSERM vol.231, 1993) et plus récemment, en novembre 1994 à Monastir en Tunisie.

Chez l'homme l'OTA induit une néphropathie interstitielle chronique d'évolution lente. Elle n'est le plus souvent pas observée avant 33-35 ans. Le tableau clinique est indiqué dans le Tableau 3.

La dégénérescence tubulaire évolutive et la réduction de la fonction rénale entraînent la mise sous dialyse des malades qui représentent jusqu'à 30% de toutes les néphropathies [redacted] Afrique du Nord (Achour *et al.*, 1993) mais aussi dans les Balkans.

La NEB est 14 fois plus fréquente dans les zones endémiques que dans les zones non endémiques où la contamination par l'OTA est plus faible. La morbidité est très forte et la mortalité par NEB est de 3/1000 /an au moins. Une controverse subsiste quant au plus grand nombre de femmes atteintes par la NEB par rapport au nombre d'hommes (3 pour 2).

Tableau 3 - Signes cliniques, histopathologiques de la Néphropathie endémique des Balkans **

Signes cliniques:

- Anémie, Asthénie, Céphalée, Polyurie, Anorexie, Lumbago.

-Insuffisance rénale, Amaigrissement, Sensation de goût amer, Taux élevé d'avortements spontanés

- Absence d'oedème.

Signes biochimiques:

Urémie

β-2 microglobulinurie

Protéinurie inférieure ou égale à 700 mg/ 24 heures.

Amino-acidurie.

Signes hématologiques:

Anémie normochrome

Signes radiologiques:

Contours lisses du rein, Réduction du volume rénal, (Hypotrophie rénale asymétrique ou bilatérale).

Signes anatomo-pathologiques:

Fibrose interstitielle, Hyalinisation glomérulaire

Dégénérescence de l'épithélium tubulaire avec desquamation

Perte de la bordure en brosse

Signes histologiques:

Amincissement de la membrane basale

Signes immunologiques:

Augmentation des IgG et IgM (immunoglobulines G et M)

Dépôt d'IgG dans la membrane basale

*tiré de Austwick, PKC, The practitioner 1981

2/ Immunosuppression

Bien qu'aucun cas d'immunosuppression en rapport avec la contamination par l'OTA n'ait été décrit chez l'homme, de nombreuses études montrent dans des systèmes in vitro, dans des cellules en culture et chez des animaux d'expérience que l'ochratoxine A est un puissant immunosuppresseur (Chang *et al.*, 1979; Haubeck *et al.*, 1981; Prior & Sisodia, 1982; Creppy *et al.*, 1982, 1983a; Lea *et al.*, 1989; Størmer & Lea, 1995). Ainsi chez la souris Balb/c des doses d'OTA de l'ordre de 0,5 à 1 µg/kg, abaissent de plus de 75% la réponse immunitaire, en terme de production IgM et IgG en réponse à des globules rouges de mouton. Cet effet immunosuppresseur de l'OTA peut être reversé par la phénylalanine (Haubeck *et al.*, 1981; Creppy *et al.*, 1982, 1983a), ce qui indique que le mécanisme en cause est directement lié à l'inhibition de la synthèse des protéines par l'OTA. Lea *et al.*, 1989 ont montré que tous les types de lymphocytes étaient touchés suite à l'exposition à l'OTA. Récemment Størmer et Lea (1995) ont montré que les lymphocytes T humains stimulés étaient moins sensibles à l'OTA qu'avant la stimulation. Les conséquences de cette immunosuppression chez l'animal d'élevage peuvent être catastrophiques car elle prédispose les animaux aux maladies microbiennes ou virales.

3/ Tératogénicité

Les effets tératogènes de l'OTA ont été mis en évidence chez les rongeurs et chez les volailles, mais le porc n'est pas épargné (Hayes *et al.*, 1974; Arora & Frölen, 1981; Fukui *et al.*, 1983; Mayura *et al.*, 1984; Ballinger *et al.*, 1986; Fukui *et al.*, 1992). La difficulté dans ces études était de déterminer les périodes de la gestation ou de la vie embryonnaire où la toxine est nocive, (passage de la barrière placentaire, accumulation dans les tissus foetaux etc.). Les effets les plus souvent décrits sont une microcéphalie, des modifications du taux de certains acides aminés dans le cerveau d'animaux nouveaux nés à la suite d'exposition à l'OTA *in utero* (Arora et Frölen, 1981) et de jeunes rats (Belmadani *et al.*, 1975). Compte tenu de son mécanisme d'action dans l'inhibition de la synthèse des protéines, il n'est pas surprenant que l'OTA soit tératogène. Ceci est confirmé par le fait que la phénylalanine réverse les effets tératogènes de l'OTA, tout comme elle empêche l'inhibition de la synthèse des protéines (Mayura *et al.*, 1984).

4/ Divers

Quand des femelles sont exposées à l'ochratoxine A, celle-ci passe dans le lait (Galtier *et al.*, 1977; Miraglia *et al.*, 1993), et dans les oeufs (Fuchs *et al.*, 1988a, c), ce qui constitue une nouvelle source de contamination pour les jeunes animaux, nourris au lait et même pour les adultes.

Quand l'ochratoxine A est associée à une ou plusieurs autres mycotoxines, il y a souvent une synergie. Des exemples d'effets synergiques sont indiqués dans le tableau 4.

Certains pays ont défini des concentrations acceptables dans les aliments, tableau 5, où l'on voit que les concentrations d'OTA tolérables sont souvent inférieures à celles de l'aflatoxine B1, autre cancérogène connu.

CONCLUSION

La toxicologie de l'ochratoxine A est très complexe. Bien que le rein soit son organe cible principal, elle est distribuée dans pratiquement tous les organes et peut y induire des effets toxiques variés.

Les effets de l'OTA les plus à craindre sont les effets néphrotoxiques, génotoxiques et cancérogènes.

La toxicité aiguë ou chronique de l'OTA est liée directement ou indirectement à sa propriété d'inhiber la synthèse des protéines par compétition avec la phénylalanine dans les réactions catalysées par la phénylalanyl-tRNA synthétase (Heller *et al.*, 1977; Bunge *et al.*, 1978; Creppy *et al.*, 1979a, b). Mais l'OTA peut inhiber toutes les réactions où la phénylalanine dont elle est l'analogue structural est engagée, comme celle de la phénylalanine hydroxylase (Creppy *et al.*, 1990). Il en est de même pour les analogues structuraux naturels qui peuvent aussi inhiber les réactions dans lesquelles sont engagés les amino acides incorporés dans leur structure. Ainsi la tyrosine-OTA qui est cytotoxique (Creppy *et al.*, 1983c) pourrait inhiber les réactions menant de la tyrosine à la dihydroxyphénylalanine (DOPA).

Tableau 4 - Manifestations cliniques et toxicologiques induites par l'association de mycotoxines.

A. Aflatoxine B1 avec d'autres mycotoxines

association avec ■	**effets**	**synergie**	**référence****
Ochratoxine A	Mortalité accrue, déficit pondéral, hyperplasie du foie néphropathie accentuée cancérogénicité accrue	+	Harvey et al., 1989 Brownie & Brownie 1988
acide cyclopiazonique	lésions hépatiques graves avec transaminases élevées, taux baissé de protéines sériques, cancérogénicité accrue	+	Smith et al., 1992
acide kojique	Production d'Hb corpusculaire	-	Giroir et al.,1991
déoxynivalénol	déficit pondéral, accroissement du rapport poids organe/pds du corps, cancérogénicité accrue	+	Huff et al., 1986
T2-Toxine	Déficit pondéral, accroissement du rapport poids organe/pds du corps, mortalité accrue chez les rongeurs, cancérogénicité accrue	+	Harvey 1990 Huff 1988
Rubratoxine B	létalité accrue, déficit pondéral accru, cancérogénicité de l'aflatoxine B1 inchangée	+	Hayes et al., 1977

B. Ochratoxines avec des mycotoxines autres que l'aflatoxine

association avec:			
citrinine	cytotoxicité accrue, cancérogénicité accrue chez la souris et le porc	+	Creppy et al., 1980 Kanisawa 1984 Manning et al.,1985
deoxynivalénol	Déficit pondéral accru, nette augmentation du poids d'organe /pds du corps	+	Kubena et al., 1984
acide pénicillique	mortalité accrue chez les rongeurs, lésions tubulaires rénales accrues	+	Kubena et al., 1984
T2-Toxine	déficit pondéral accru, effet tératogène accru immunosuppression accrue	+	Kubena et al., 1989

■ ceci n'est pas exhaustif
** Ces références se trouvent dans les revues et articles suivants: - Kuiper-Goodman et al., Regulatory Toxicology and Pharmacology,7, 253-306. -IARC, 1993, IARC Monograph n° 56, Iarc Lyon Ed, France. -Steyn, 1993, Colloque INSERM 1993, Vol. INSERM n°231 Creppy, Castegnaro, et Dirheimer Eds. J.Libbey Eurotext, Paris.

Tableau 5 - Concentrations maximales tolérées de certaines mycotoxines dans l'alimentation.

Continents ou Pays ou **OMS**	Toxines	Aliment	Tolérance µg/kg*	Remarques
	Aflatoxine			
USA		nourriture	20	
Europe		"bovins	10 à 50	
		"porc et "volaille	20	
France			10	
			5	nourriture pour bébé
Suisse			0	
Japon			5	
	Ochratoxine			
Europe			1 à 25	
France			5	proposition conseil supérieur d'hygiène
Pays-Bas			3	
Angleterre			10	
	Trichothécène T_2-toxine			
	Citrinine			
	Patuline			
			50	
	Zéaralénone			
	Fumonisine			
			1000	absence de règlementation devrait être < 100 ppb

* ces valeurs risquent d'être abaissées prochainement, compte tenu de l'évolution des choses en Europe.

Les effets cytotoxiques des ochratoxines sont aussi en partie liés aux processus oxydatifs, à la mobilisation du calcium intra-cellulaire (Khan *et al.*, 1989), à l'inhibition de la respiration mitochondriale (Meisner & Chang., 1974; Wei *et al.*, 1985) et à l'inhibition de la synthèse d'ATP, (pour une revue voir Pohland *et al.*, 1992, et Størmer, 1992).

Lorsqu'une mycotoxine a été découverte, étudiée sur le plan chimique et bien identifiée dans l'alimentation ou dans l'environnement, les progrès vers une bonne

prévention et une législation adaptée dépendent à la fois des résultats expérimentaux obtenus chez l'animal, des effets possibles chez l'homme lorsqu'il y est exposé et de l'impact de tous ces travaux dans la vie économique et sociale sur le plan international. Mais l'extrapolation des données des rongeurs à l'Homme, pour les faibles doses en cause dans la cancérogenèse des mycotoxines est une véritable gageure, car il y a un très grand nombre de facteurs qui entrent en jeu

- les différences inter espèces sur le plan du métabolisme et de la distribution dans l'organisme
- le processus de la cancérogenèse
- l'hétérogénéité de l'espèce humaine (polymorphisme génétique)
- l'état sanitaire des populations concernées, leurs habitudes alimentaires la consommation ou non d'alcool, de cigarettes et / ou de médicaments.

En plus de ces facteurs, il faut ajouter les difficultés à établir un seuil tolérable dans les aliments en tenant compte des problèmes de santé publique et des problèmes économiques.

En matière de mycotoxicose humaine, "les sources d'erreurs et les écueils sont si nombreux et si imbriqués les uns dans les autres que seules les données empiriques peuvent résoudre les problèmes posés" (Ames *et al.*, 1987). Sans être aussi pessimiste, force est de constater que les problèmes de la toxicité chronique de l'Ochratoxine A sont loin d'être résolus. En effet la NEB ne recule pas, bien au contraire. Elle concernerait peut être tout le bassin méditerranéen. L'ochratoxicose animale touche de très nombreux pays et l'établissement des taux acceptables relativement bas en rapport avec les risques encourus préfigurent d'énormes difficultés pour l'agriculture en général, les céréaliers et les éléveurs de volailles et de porc en particulier. La présence d'autres mycotoxines dans les mêmes aliments, avec des effets synergiques toujours possibles constitue une source supplémentaire d'inquiétude.

Remerciements: Les résultats exposés dans ce document sont issus des programmes de recherches menées au Laboratoire de Toxicologie et Biologie Moléculaire de l'Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire du CNRS à Strasbourg, où ces travaux ont été initiés en 1976 par E.E. Creppy et G. Dirheimer, et de celles menées depuis 6 ans au Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène Appliquée de Bordeaux, Université de Bordeaux 2, ainsi que des collaborations avec des chercheurs Allemands, R. Röschenthaler depuis 1976, E. Petzinger, W. Föllmann, KJ. Ullrich, depuis 1990 [redacted] Français notamment le Dr. Castegnaro M de l'IARC de Lyon depuis 1988, Dr. Pfohl-Leszkowicz A. de l'IBMC du CNRS Strasbourg depuis 1991 et avec le Professeur H. Bacha à Monastir depuis 1983. Puissent toutes ces personnes trouver ici l'expression de la reconnaissance des auteurs.

BIBLIOGRAPHIE

ACHOUR A., EL-MAY M., BACHA H., HAMMAMI M., MAAROUFI K. et CREPPY E.E., 1993 - Néphropathies interstitielles chroniques. Approches cliniques et étiologiques: ochratoxine A. *In:* Creppy EE. Castegnaro M., Dirheimer G. (eds) Human ochratoxicosis and its pathologies, vol 231, Colloque INSERM/John Libbey Eurotext ltd, pp. 227-234.

AMES B.N., MAGAW R. and GOLD L.S., 1987 - Ranking possible carcinogenic Hazards. *Science* 236: 271-280.

ARORA R.G. and FRÖLEN H., 1981 - Interference of mycotoxins with prenatal development of the mouse. Ochratoxin A induced teratogenic effects in relation to the dose and stage of gestation. *Acta Vet. Scand.* 22: 535-552.

AUSTWICK P.K.C., 1981 - Balkan nephropathy. *The Practitioner*. 225: 1031-1038.

BACHA H., MAAROUFI K., ACHOUR A., HAMMAMI M., ELLOUZ F. et CREPPY E.E., 1993 - Ochratoxines et ochratoxicoses humaines en Tunisie. *In:* Creppy EE., Castegnero M., Dirheimer G. (eds) Human ochratoxicosis and its pathologies, vol 231, Colloque INSERM/John Libbey Eurotext ltd, pp. 111-121.

BALLINGER M.B., PHILLIPS T.D. and KUBENA L.F., 1986 - Assessment of the distribution and elimination of ochratoxin A in the pregnant rat. *J. Food Safety* 8: 11-24.

BAUDRIMONT I., BETBEDER A.M., GHARBI A., PFOHL-LESZKOWICZ A., DIRHEIMER G. and CREPPY E.E., 1994 - Effect of superoxide dismutase and catalase on the nephrotoxicity induced by subchronical administration of ochratoxin A in rats. *Toxicology* 89: 101-111.

BAUDRIMONT I., MURN M., BETBEDER A.M., GUILCHER J. and CREPPY E.E., 1995a - Effect of piroxicam on the nephrotoxicity induced by ochratoxin A in rats. *Toxicology* 95: 147-154.

BAUDRIMONT I., AHOUANDJIVO R. and CREPPY E.E., - 1995c - Lipid peroxidation induced by ochratoxin A in Vero cells in culture: effects of several preventing agents. *Chem. Biol. Interact.* (soumis à publication)

BAUDRIMONT I., BETBEDER A-M., and CREPPY E.E., 1995b - Prevention of the ochratoxin A-induced inhibition of the protein synthesis in Vero cells by A19. *Arch. of Toxicol.* (soumis à publication)

BAUER J. and GAREIS M., 1987 - Ochratoxin A in der Nahrungsmittelkette. *Z. Veterinärmed.* B. 34: 613-627.

BAXTER C.S., WILSON D.W. and BURG W.R., 1981 - A prospective analysis of the potential risk associated with inhalation of aflatoxin-contaminated grain dusts . *Food Cosmet. Toxicol.* 19: 765-769.

BEDFORD M.T. and van HELDEN P.D., 1987 - Hypomethylation of DNA in pathological conditions of human prostate. *Cancer. Res.* 47: 5274-5276.

BELMADANI A., BETBEDER A-M., TRAMU G. and CREPPY E.E., 1995 - Effects of ochratoxin A in central nervous system of rats fed subchronically: variation of free amino acids and prevention by aspartane structural analogue. *Toxicology* (soumis à publication)

BERNDT W.O. and HAYES A.W., 1979 - In vivo and in vitro changes in renal functions caused by ochratoxin A in the rat. *Toxicology* 12: 5-17.

BREITHOLTZ A., OLSEN M., DAHLBACK A., HULT K., 1991 - Plasma ochratoxin A levels in three swedish populations surveyed using an ion-pair HPLC technique. *Food Addit Contam.* 8: 183-192.

BUNGE I., DIRHEIMER G., RÖSCHENTHALER R., 1978 - In vitro and in vivo inhibition of protein synthesis in Bacillus stearothermophilus by ochratoxin A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 83: 398-405.

CARTY T.J.G., STEVENS J.S., LOMBARDINO J.G., PARRY M.J. and RANDALL M.J., 1980 - Piroxicam, a structurally novel anti-inflammatory compound. Mode of prostaglandin synthesis inhibition. *Prostaglandins.* 19: 671-682.

CASTEGNARO M., BARTSCH H., BEREZIAT J.C., ARVELA P., MICHELON J. and BROUSSOLLE L., 1989 - Polymorphic ochratoxin A hydroxylation in rats strains phenotyped as poor and extensive metabolizers of debrisoquine. *Xenobiotica* 19: 225-230.

CEOVIC S., GRIMS P. and MITAR J., 1976 - The incidence of tumours of the urinary organs in the region of endemic nephropathy and in control region (Yugolsl.) Lijec. *Vjesn.* 98: 301-304.

CHAKOR K, CREPPY E.E. and DIRHEIMER G., 1988 - In vivo studies on the relationship between hepatic metabolism and toxicity of ochratoxin A. *Arch. Toxicol.*, Suppl. 12: 201-204.

CHANG C.F., HUFF W.E. and HAMILTON P.B., 1979 - A leucocytopenia-induced in chicken by dietary ochratoxin A. *Poultry Sci.* 58: 555-558.

CHERNOZEMSKY I.N., STOYANOV I.S., PETKOVA-BOCHAROVA, T.K., NICOLOV I.V., DRAGANOV G, STOICHEV I., TANCHEV Y., NAIDENOV D., and KALCHEVA N.D., 1977 - Geographical correlation between the occurence of endemic nephropathy and urinary tract tumours in Vratza district in Bulgaria. *J. Cancer* 19: 1-11.

CREPPY E.E., LUGNIER A.A.J., FASIOLO F., HELLER K., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1979a - In vitro inhibition of yeast phenylalanyl-tRNA synthetase by ochratoxin A. *Chem. Biol. Interact.* 24: 257-262.

CREPPY E.E., LUGNIER A.A.J., BECK G., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1979b - Action of ochratoxin A on cultured hepatoma cells-Reversion of inhibition by phenylalanine. *FEBS Lett.* 104: 287-290.

CREPPY E.E., KANE A., GIESSEN-CROUSE E., ROTH A., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1986 - Effect of ochratoxin A on enzyme activities and macromolecules synthesis in MDCK cells. *Arch. Toxicol.* Suppl. 9: 310-314.

CREPPY E.E., KERN D., STEYN P.S., VLEGAAR R., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1983c - Comparative study of the effect of ochratoxin A analogues on yeast aminoacyl-tRNA synthetases and on the growth and protein synthesis of hepatoma cells. *Toxicol. Lett.* 19: 217-224.

CREPPY E.E., LORKOWSKI G., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1982 - Kinetics of immunosuppressive action of ochratoxin A on mice. In: Proceedings V International IUPAC Symposium Mycotoxins and Phycotoxins, September 1-3, 1982 Vienna, pp. 289-292. Austrian Chem. Soc., Vienna.

CREPPY E.E., SCHLEGEL M., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1980 - Phenylalanine prevents acute poisoning by ochratoxin A in mice. *Toxicol. Lett.* 6: 77-80.

CREPPY E.E., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1984 - Inhibition of protein synthesis in mice by ochratoxin A and its prevention by phenylalanine. *Food Chem. Toxicol.* 22: 883-886.

CREPPY E.E., STØRMER F.C., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1983a - Effects of two metabolites of ochratoxin A, [4R]-4-hydroxyochratoxin A and ochratoxin alpha, on the immune response in mice. *Infect. Immun.* 39: 1015-1018.

CREPPY E.E., STØRMER F.C., KERN D., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1983b - Effects of ochratoxin A metabolites on yeast phenylalanyl-tRNA synthetase and in vitro protein synthesis of hepatoma cells. *Chem. Biol. Interact.* 47: 239-247.

CREPPY E.E., KANE A., DIRHEIMER G., LAFARGE-FRAYSSINET C., MOUSSET S. and FRAYSSINET C., 1985 - Genotoxicity of ochratoxin A in mice: DNA single-strand break evaluation in spleen, liver and kidney. *Toxicol. Lett.* 28: 29-35.

CREPPY E.E., CHAKOR K. FISHER M.J. and DIRHEIMER G., 1990 - The mycotoxin ochratoxin A is a substrate for phenylalanine hydroxylase in isolated rat hepatocytes and in vivo. *Arch Toxicol.* 64: 279-284.

CREPPY EE., CASTEGNARO M., GROSSE Y., MERIAUX J., MANIER C., MONCHARMONT P WALLER C, 1993 - Etude de l'ochratoxicose humaine dans trois régions de France: Alsace Aquitaine et Région Rhône-Alpes. *In:* Creppy E.E., Castegnaro M. Dirheimer G., (eds) Human ochratoxicosis and its pathologies, vol 231. Colloque INSERM/John Libbey Eurotext ltd, pp 147-158.

DE BUSTRO A., NELKIN B.D., SILVERMAN A., EHRLICH G., POIESZ B., BAYLIN S.B 1988 - The short arm of chromosome 11 is a "hot spot" for hypermethylation in human neoplasia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 85: 5693-5697.

DELACRUZ L. and BACH P.H., 1990 - The role of ochratoxin A metabolism and biochemistry in animal and human nephrotoxicity. *J. Biopharmacol. Sci.* 1: 277-304.

DE FLORA S., BENNICELLI C. and CAMOIRANO A., 1985 - In vivo effects of N-acetylcysteine on glutathione metabolism and on the biotransformation of carcinogenic and/or mutagenic compounds. *Carcinogenesis* 6: 1735-1745.

DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT (1990)

DI PAOLO N., GUARNIERI A., LOI F., SACCHI G, MANGIAROTTI A.M. and DI PAOLO M., 1993 - Acute renal failure from inhalation of mycotoxins. *Nephron* 64: 621-625.

DOSTER R.C., SINNHUBER R.O. and WALES J.H., 1972 - Acute intraperitoneal toxicity of ochratoxins A and B in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Food and Cosmetics Toxicology* 10: 85-92.

DWIVEDI P. and BURNS R.B., 1984 - Effect of ochratoxin A on immunoglobulins in broiler chicks. *Res. Vet. Sci.* 36: 117-121.

ELLING F., 1977 - Demonstration of ochratoxin A in kidney of pigs and rats by immunofluorescence microscopy. *Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect.* A 85: 151-156.

ELLING F., NIELSEN J.P., LILLEHOJ, E.B., THOMASSEN M.S. and STØRMER F.C., 1985 - Ochratoxin A-induced porcine nephropathy: enzyme and ultra structure changes after short-term exposure. *Toxicon* 23: 247-254.

FINK-GREMMELS J., BLOM M. and WOUTERSEN F., 1993 - In vitro investigations on ochratoxin A metabolism. In Human ochratoxicosis and its pathologies, E.E.Creppy, M. Castegnaro and G. Dirheimer (Eds), John Libbey Eurotext INSERM, vol 231, pp. 67-74.

FÖLLMANN W., HILLEBRAND I.E., CREPPY E.E. and BOLT H.M., 1995 - Sister chromatid exchange frequency in culture isolated porcine urinary bladder epithelial cells (PUBEC) treated with ochratoxin A and alpha. *Arch. Toxicol.* 69: 280-286.

FRIIS C., BRINN R. and HALD B., 1988 - Uptake of ochratoxin A by slices of pig kidney cortex. *Toxicology* 52: 209-217.

FUCHS R., APPELGREN L.E. and HULT K., 1988a - Distribution of ^{14}C-ochratoxin A in the mouse monitored by whole body auto radiography. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 63: 355-360.

FUCHS R., APPELGREN L.E. and HULT K., 1988b - Distribution of ^{14}C-ochratoxin A in the rainbow trout (Salmon gairdneri). *Acta Pharmacol. Toxicol.* 59: 220-227.

FUCHS R., APPELGREN L.E. HAGELBERG S. and HULT K., 1988c - Carbon ^{14}-ochratoxin A distribution in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) monitored by the whole body autoradiography. *Poult. Sci.* 67: 707-714.

FUKUI Y., HAYASAKA I., INOUYE M. and KAMEYAMA Y., 1983 - Microcephaly induced in mice by prenatal exposure to ochratoxin A. *Environmental Medicine* 27: 41-49.

FUKUI Y., HAYASAKA S. ITOH M. and TAKEUCHI Y., 1992 - Development of neurones and synapses in ochratoxin A-induced micro cephalic mice: a quantitative assessment of somatosensori cortex. *Neurotoxicology and Teratology*, 14, pp. 191-196.

GALTIER P., MORE J. et BODIN G., 1974 - Toxines *d'Aspergillus ochraceus* Wilhelm III. Toxicité aigüe de l'ochratoxine A chez le rat et la souris adultes. *Annales de Recherches Vétérinaires* 5: 233-247.

GALTIER P., BONEUN B., CHARPENTEAU J.L., BODIN G., ALVINERIE M., and MORE J., 1979 - Physiopathology of haemorrhagic syndrome related to ochratoxin A intoxication in [illegible]. *Food Cosmet. Toxicol.* 17: 49-53.

GALTIER P., ALVINERIE M. and CHARPENTEAU J.L., 1981 - The pharmacokinetic profiles of ochratoxin A in pigs, rabbits and chickens. *Food Cosmet. Toxicol.* 19: 735-738.

GALTIER P., ALVINERIE M. and LE BARS J., 1984 - Comparative incidence of oral ochratoxicosis on the activity of drug-metabolizing enzymes in rat liver. *Toxicol. Lett.* 245: 7558-7560.

GEKLE M., OBERLEITHNER H. and SILBERNAGL S., 1993 - Ochratoxin A impairs "post-proximal" nephron function in vivo and blocks plasma membrane anion conductance in Madin-Darby canine kidney cells in vitro. *Eur. J. Physiol. Pflügers Arch.* 425: 401-408.

GHARBI A., TRILLON O., BETBEDER A-M., COUNORD J., GAURET M-F., PFOHL-LESZKOWICZ A., G.DIRHEIMER and CREPPY E.E., 1993 - Some effects of ochratoxin A, a mycotoxin contaminating feeds and food, on rat testis. *Toxicology* 83: 9 - 18.

GILANI S.H., BANCROFT J. and REILY M., 1978 - Teratogenicity of ochratoxin A in chick embryos. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 46: 543-546.

GROSSE Y., BAUDRIMONT I., CASTEGNARO M., BETBEDER A.M., CREPPY E.E., DIRHEIMER G., and A. PFOHL-LESZKOWICZ, 1995 - Formation of ochratoxin A metabolites and DNA-adducts in monkey kidney cells. *Chem.-Biol. Interact.* 95: 175-187.

GUPTA M., BANDYOPADDHYAY S., PAUL B. and MAJUMDER S.K., 1979 - Hematological changes produced in mice by ochratoxin A. *Toxicology* 14: 95-98.

HADIDANE R., BACHA H., CREPPY E.E., HAMMAMI M., ELLOUZ F. and DIRHEIMER G., 1992 - Isolation and structure determination of natural analogues of the mycotoxin ochratoxin A produced by *Aspergillus ochraceus. Toxicology* 76: 233-243.

HARVEY R.B., HUFF W.E., KUBENA L.F. and PHILLIPS T.D., 1989 - Evaluation of diets contaminated with aflatoxin and ochratoxin fed to growing pigs. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1400-1405.

HAUBECK H.D., LORKOWSKI G., KOLSCH E. and RÖSCHENTHALER R., 1981 - Immunosuppression by ochratoxin A and its prevention by phenylalanine. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 1040-1042.

HAYES A.W., HOOD R.D. and LEE H.L., 1974 - Teratogenic effects of ochratoxin A in mice. *Teratology* 9: 93- 97.

HELLER K. and RÖSCHENTHALER R., 1978 - Inhibition of protein synthesis in streptococcus faecalis by ochratoxin A. *Can. J. Microbiol.* 24: 466-472.

HENNIG A. FINK-GREMMELS J. and LEISTNER L., 1991 - Mutagenicity and effects of ochratoxin A on frequency of sister chromatid exchange after metabolic activation. *In* Mycotoxins, endemic Nephropathy and Urinary tract Tumours, Castegnaro M, Plastina R, Dirheimer G., Chernozemsky I.N., Bartsch H (Eds), IARC Scientific Publications N°115, Lyon, pp. 255-260.

HIETANEN E., MALAVEILLE C., CAMUS A.M., BEREZIAT J.C., BRUN G., CASTEGNARO M., MICHELON J., IDLE J.R. and BARTSCH H., 1986 - Interstrain comparison of hepatic and renal microsomal carcinogen metabolism and liver S9-mediated mutagenicity in DA and Lewis rats phenotyped as poor and extensive metabolizers of debrisoquine. *Drugs Metabol. Dispos.* 14: 118-126.

HOLMBERG T., THUVANDER A. and HULT K., 1988 - Ochratoxin A as a suppressor of mitogen-induced blastogenesis of porcine blood lymphocytes. *Acta. Vet. Scand.* 29: 219-223.

IARC (1982) Environmental Carcinogens. Selected methods of analysis, vol.5 Some Mycotoxins. International Agency for Research on Cancer ed., Lyon (France).

IARC, (1993) International Agency for Research on Cancer, Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans: Some naturally occurring substances, some foodstuffs and constituants, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. In: IARC ed., IARC Lyon (France)

IPCS, International Programme on Chemical Safety (1990), Selected mycotoxins: ochratoxins, trichothecenes, ergot. Environmental criteria, WHO, Geneva, 105: 15-70.

JONES P.A., 1984 - Gene activation by 5-azacytidine. *In* A. Razin, H.Cedar, A.D. Riggs (eds). DNA methylation: Biochemistry and biological significance, New-York Springer-Verlag, pp. 165-188.

JONES P.A., WOLKOWICZ M.J., RIDEOUT W.M., GONZALES F.A., MARZIASZ C.M., COETZEE G.A., TAPSCOTT S.J., 1990 - De novo methylation of the Myo D1 CpG island during the establishment of immortal cell lines. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 87: 6117-6121.

JUNG K.Y. and ENDOU H., 1989 - Nephrotoxicity assessment by measuring cellular ATP content. II. Intranephron site of ochratoxin A nephrotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 100: 383-390.

KANE A, 1986 - Intoxication subchronique par l'ochratoxine A, Mycotoxine contaminant les aliments: effets néphrotoxiques et génotoxiques. Thèse de doctorat de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg.

KANE A., CREPPY E.E., ROTH A., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1986b - Distribution of the [3H]-label from low doses of radioactive ochratoxin A ingested by rats, and evidence for DNA single-strand breaks caused in liver and kidneys. *Arch. Toxicol.* 58: 219-224.

KANE A., CREPPY E.E., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1986b - Changes in urinary and renal tubular enzymes caused by subchronic administration of ochratoxin A in rats. *Toxicology* 42: 233-243.

KANISAWA M., SUZUKI S., KOZUKA W. and YAMAZAKI M., 1977 - Histopathological studies on the toxicity of ochratoxin A in rats. I. Acute oral toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 42: 55-64.

KANISAWA M., SUZUKI S., 1978 - Induction of renal and hepatic tumours in mice by ochratoxin A, a mycotoxin. *Gann* 69: 599-600.

KANISAWA M., 1984 - Synergistic effect of citrinin on hepatorenal carcinogenesis of ochratoxin A in mice. *Devel. Food Sci* 7: 245-254.

KAWAMURA O., MAKI S., SATO S. and UENO Y., 1993 - Ochratoxin A in livestock and human sera quantified by a sensitive ELISA. In Human ochratoxicosis and its pathologies, E.E.Creppy, M. Castegnaro and G. Dirheimer (Eds), John Libbey Eurotext INSERM, vol. 231, pp. 159-165.

KHALEF A., BENABADJI M., RAYAN T. et HADDOUMI F., 1993 - Présence de l'ochratoxine A dans le sang humain et néphropathie en Algérie. *In* Creppy EE. Castegnaro M., Dirheimer G. (eds) Human ochratoxicosis and its pathologies, vol 231, Colloque INSERM/John Libbey Eurotext ltd, pp. 235-238.

KHAN S., MARTIN M., BARTSCH H. and RAHIMTULA A.D., 1989 - Perturbation of liver microsomal calcium homeostasis by ochratoxin A. *Biochem. Pharmacol.* 38: 67-72.

KROGH P., 1974 - Mycotoxic porcine nephropathy: a possible model for Balkan endemic nephropathy. In Endemic Nephropathy. Proceedings of the Second international Symposium on Endemic Nephropathy. Edited by A. Puchlev, pp. 266-270. Publishing House of the Bulgarian Academy of Science, Sofia.

KROGH P., 1977 - Ochratoxins In: Mycotoxins in human and animal health (J.V. Rodricks, C.W. Hesseltine and M.A. Mehlman eds.), Pathotox, Forest Park South, Ill., pp. 489-498.

KROGH P., 1987 - Mycotoxins in food. Edited by P. Krogh. Academic Press, Cambridge, pp. 1- 27.

KROGH P., GYRD-HANSEN N., HALD B., LARSEN S., NIELSEN J.P., SMITH M., IVANOFF C. and MEISNER H., 1988 - Renal enzyme activities in experimental ochratoxin A induced porcine nephropathy: diagnostic potential of phosphoenolpyruvate carboxykinase and gamma-glutamyl transpeptidase activity. *J. Toxicol. Environ. Health.* 23: 1-14.

KUIPER-GOODMAN T. and SCOTT P.M., 1989 - Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomedical and Environmental Sciences* 2: 179-248.

KUMAGAI S., AIBARA K., 1982 - Intestinal absorption and secretion of ochratoxin A in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 64: 94-102.

LEA T., STEIN K. and STØRMER F.C., 1989 - Mechanism of ochratoxin A-induced immunosuppression. *Mycopathology* 107: 153-159.

MAAROUFI K, ACHOUR A, HAMMAMI M, EL-MAY M, BETBEDER A-M, ELLOUZ F, CREPPY EE, BACHA H., 1995 - Ochratoxins in human blood in relation to nephropathy in Tunisia. *Human Exp Toxicol* 14: 609-615.

MADSEN A., MORTENSEN. and HALD B., 1982 - Feeding experiments with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. I. Influence on pig performance and residues *Acta Agric. Scand.* 32: 225-239.

MALAVEILLE C., BRUN G. and BARTSCH H., 1991 - Genotoxicity of ochratoxin A and structurally related compounds in *Escherichia coli* strains: studies on their mode of action. *In:* Mycotoxin, endemic nephropathy and urinary tract tumours. Castegnaro M., Plestina R., Dirheimer G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch H., eds (IARC Scientific publications N°115), Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp. 261-266.

MARSHALL C.J., 1991 - Tumour suppressor genes. *Cell* 64: 313-326.

MAYURA K., EDWARDS J.F., MAULL E.A. and PHILLIPS T.D., 1989 - The effects of ochratoxin A on post implantation rat embryos in culture. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18: 411-415.

MAYURA K., STEIN A.F., BERNDT W.O. and PHILLIPS T.D., 1984 - Teratogenic effects of ochratoxin A in rats with impaired renal function. *Toxicology* 32: 277-285.

MEISNER H., CIMBALA M.A .and HANSON R.W., 1983 - Decrease of renal phosphoenolpyruvate carboxykinase RNA and poly (A) RNA level by ochratoxin A. *Arch. Biochem. Biophys.* 223: 264-270.

MEISNER H. and CHANG S., 1974 - ochratoxin A, [redacted] inhibitor of mitochondrial transport system. *Biochemistry* 13: 2795-2800.

MICCO C., AMBRUZZI M.A., MIRAGLIA M., BRERA C., ONORI R. and BENELLI L., 1991 - Contamination of human milk with ochratoxin A. *In* Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Castegnaro M., Plestina R., Dirheimer G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch H., eds. IARC Scientific publication, n° 115, pp. 105-108.

MIRAGLIA M., BRERA C., CORNELI S. and DE DOMINICIS R., 1993 - Ochratoxin A in Italy: status of knowledge and perspectives. Human ochratoxicosis and its pathologies. Eds Creppy E.E.,Castegnaro M., Dirheimer G., Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd. Vol 231, pp. 129-139.

MOROI K., SUZUKI S., KUGA T., YAMAZAKI M. and KANISAWA M., 1985 - Reduction of ochratoxin A toxicity in mice treated with phenylalanine and phenobarbital.. *Toxicol. Lett.* 25: 1-5.

MORTENSEN H.P., HALD B. LARSEN A.E. and MADSEN A., 1983 - Ochratoxin A contaminated barley for sows and piglets. *Acta Agric. Scand.* 33: 349-352.

MÜNZEL P.A., PFOHL-LESZKOWICZ A., ROHRDANZ E., KEITH G., DIRHEIMER G. and BOCK K.W., 1991 - Site-specific hypomethylation of c-myc protooncogene in liver nodules and inhibition of DNA methylation by N-nitrosomorpholine. *Biochem. Pharmacol.* 42: 365-373.

NGAHA E.O., 1985 - Biochemical changes in the rat during experimentally induced acute ochratoxicosis. *Enzyme* 33: 1-8.

NTP (1989) -NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of ochratoxin A (Cas n° 303-47-9) in F344/N-Rats (Gavage studies) G. Boorman, Ed.) NIH Publication N° 89-2813, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC.

OMAR R.F., RAHIMTULA A.D. and BARTSCH H., 1991 - Role of cytochrome P-450 in ochratoxin A stimulated lipid peroxidation. *J. Biochem. Toxicol.* 6: 203-209.

OSTER T. JAYYOSI Z., CREPPY E.E., El HAMRI H.S. and BATT A-M., 1991 - Characterization of pig liver purified cytochrome P-450 isoenzymes for ochratoxin A metabolism studies. Toxicol. Lett. 57: 203-214.

PETKOVA-BOCHAROVA T., CASTEGNARO M. MICHELON J. and MARU V., 1991 - Ochratoxin A and other mycotoxins in cereals from an area of Balkan endemic nephropathy and urinary tract tumours in Bulgaria. *In* Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Castegnaro M., Plestina R., Dirheimer G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch H., eds. IARC Scientific publication, n° 115, pp. 83-87.

PETKOVA-BOCHAROVA T., CHERNOZEMSKY I.N. and CASTEGNARO M., 1988 - Ochratoxin A in relation to Balkan endemic nephropathy and urinary system tumours in Bulgaria. *Food Addit. Contam.* 5: 299-301.

PFOHL-LESZKOWICZ A., CHAKOR K., CREPPY E.E. and DIRHEIMER G., 1991 - DNA-adduct formation in mice treated with ochratoxin A. *In* Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Castegnaro M., Plestina R., Dirheimer G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch H., eds. IARC Scientific publication, n° 115, pp. 245-253.

PFOHL-LESZKOWICZ A., GROSSE Y., KANE A., CREPPY E.E. and DIRHEIMER G., 1993a - Differential DNA-adduct formation and disappearance in three mice tissues after treatment by the mycotoxin ochratoxin A. *Mutation Res.* 289: 265-273.

PFOHL-LESZKOWICZ A., GROSSE Y., KANE A., GHARBI A., BAUDRIMONT I., OBRECHT S.M., CREPPY E.E. and DIRHEIMER G., 1993b - Is the oxidative pathway implicated in the genotoxicity of ochratoxin A. *In* Human ochratoxicosis and its pathologies, E.E.Creppy, M. Castegnaro and G. Dirheimer (Eds), John Libbey Eurotext INSERM, vol 231, pp. 177-188.

PFOHL-LESZKOWICZ A., GROSSE Y., OBRECHT S.M., KANE A., CASTEGNARO M., CREPPY E.E. and DIRHEIMER G., 1993c - Preponderance of DNA-adducts in kidney after ochratoxin A. In: Human ochratoxicosis and its pathologies, E.E.Creppy, M. Castegnaro and G. Dirheimer (Eds), John Libbey Eurotext INSERM, vol 231, pp. 199-208.

PITOUT M.J., 1969 - The hydrolysis of ochratoxin A by some proteolytic enzymes. *Biochem. Pharmacol.* 18: 1829-1836.

PLESTINA R., CEOVIC S., GATENBECK S., HABAZIN-NOVAK V., HULT K., HÖKBY E., KROGH P. and RADIC B., 1990 - Human exposure to ochratoxin A in areas of Yugoslavia with endemic nephropathy. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 10: 145-148.

POHLAND A.E., NESHEIM S. and FRIEDMAN L., 1992 - Ochratoxin A: A review. *Pure and Appl. Chem.* vol. 64 (7): 1029-1046.

PRIOR M.G. and SISODIA C.S., 1982 - The effects of ochratoxin A on immune response of Swiss mice. *Canad. J. of Comp. Med.* 46: 91-96.

RAHIMTULA A.D., BEREZIAT J.C. BUSSACCHINI-GRIOT V. and BARTSCH H., 1988 - Lipid peroxidation as a possible cause of ochratoxin A toxicity. *Biochem. Pharmacol.* 37: 4469-4477.

ROTH A., CHAKOR K., CREPPY E.E., KANE A., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1988 - Evidence for an enterohepatic circulation of ochratoxin A in mice. *Toxicology* 48: 293-308.

ROTH A., CREPPY E.E., KANE A., BACHA H., STEYN S.P., RÖSCHENTHALER R. and DIRHEIMER G., 1989 - Influence of ochratoxin B on the ochratoxin A inhibition of phenylalanyl-tRNA Phe formation in vitro and protein synthesis in hepatoma tissue culture cells. *Toxicol Lett.* 45: 307-314.

SANSING G.A., LILLEHOJ E.B., DETROY R.W. and MILLER M.A., 1976 - Synergistic toxic effects of citrinin, ochratoxin A and penicillic acid in mice. *Toxicon* 14: 213-220.

SCOTT De.B., 1965 - Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products, *Mycopathol. Mycol. Appl.* 25: 213-222.

SCOTT P.M., VAN-WALBEEK W., KENNEDY B., and ANYETI D., 1972 - Mycotoxins (ochratoxin A, citrinin, and sterigmatocystin) and toxigenic fungi in grains and other agricultural products. *J. Agric. Food Chem.* 20: 1103-1109.

SIGRID H. and HULT K., 1989 Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma binding properties *J. Appl. Toxicol.* 9: 91-96.

SOKOL P.P., RIPICH G., HOLOHAN P.D. & ROSS C.R., 1988 - Mechanism of ochratoxin A transport in Kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 246: 460-465.

SOSTARIC B. and VUKELIC M., 1991 - Characteristics of urinary tract tumours in the area of Balkan endemic nephropathy in Croatia. *In:* Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Castegnaro M., Plestina R., Dirheimer G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch H., eds. IARC Scientific publication, n° 115, pp. 29-35.

STEYN P.S., 1993 - Mycotoxins of human health concern. *In*: Human ochratoxicosis and its pathologies, E.E.Creppy, M. Castegnaro and G. Dirheimer (Eds), John Libbey Eurotext INSERM, vol 231, pp. 3-31.

STOJKOVIC R., HULT K., GAMULIN S. and PLESTINA R., 1984 - High affinity binding of ochratoxin A to plasma constituents. *Biochem. Int.* 9: 33-38.

STOYANOV I.S., STOJCHEV I.I., NICOLOV I.G., DRAGANOV I.V., PETKOVA-BOCHAROVA T.K., and CHERNOZEMSKY I.N., 1977 - Cancer mortality in a region with endemic nephropathy. *Neoplasma* 24: 625-632.

STOYANOV I.S., CHERNOZEMSKY I.N., NICOLOV I.G., STOJCHEV I.I. and PETKOVA-BOCHAROVA T.K., 1978 - Epidemiologic association between endemic nephropathy and urinary system tumors in an endemic region. *J. Chronic Dis.* 31: 721-724.

STØRMER, F.C., HANSEN C.E., PEDERSEN J.I. HVISTENDAHL G. and AASEN A.J., 1981 - Formation of (4R) and (4S)-4-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by liver microsomes from various species. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 1051-1056.

STØRMER F.C., STØREN O., HANSEN C.H., PEDERSEN J.I. and AASEN A.J., 1983 - Formation of [4R]-4- and [4S]-4-hydroxyochratoxin A and 10-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by rabbit liver microsomes *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1183-1187.

STØRMER F.C., KOLSAKER P., HOLM H., ROGSTAD S. and ELLING F., 1985 - Metabolism of ochratoxin B and its possible effects upon the metabolism and toxicity of ochratoxin A in rats. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 1108-1112.

STØRMER F.C., 1992 - Ochratoxin A - A mycotoxin of concern. In Handbook of applied Mycology. Mycotoxins in Ecological Systems. Bhatnagar D, Lillehoj E.B., Arora, D.K. (Eds), vol.5, M. Dekker, Inc, pp. 403-432.

STØRMER F.C., LEA T., 1995 - Effects of ochratoxin A upon early and late events in human T-cell proliferation. *Toxicology* 95: 45-50.

SUZUKI S. and SATOH T., 1973 - Effects of ochratoxin A on tissue glycogen levels in rats. *Japanese J. Pharmacol.* 23: 415-419.

SUZUKI S., KOZUKA Y., SATOH T. and YAMAZAKI M., 1975 - Studies on the nephrotoxicity of ochratoxin A in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 34: 479-490

SUZUKI S., MOROI K., KANISAWA M. and SATOH T., 1986 - Effect of drug metabolizing enzyme inducers on carcinogenesis and toxicity of ochratoxin A in mice. *Toxicol. Lett.* (Suppl. 31): 206.

SZCZECH G.M., CARLTON W.W. and TUITE J., 1973a - Ochratoxicosis in beagle dogs. I Clinical and clinicopathological features. *Vet. Pathol.* 10: 135-154.

SZCZECH G.M., CARLTON W.W. and TUITE J., 1973b - Ochratoxicosis in beagle dogs. II. Pathology, *Vet. Pathol.* 10: 219-231.

TANCHEV Y. and DOROSSIEV D., 1991 - The first clinical description of Balkan endemic nephropathy (1956) and its validity 35 years later. *In* Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours, Castegnaro M., Plestina R., Dirheimer G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch H., eds. IARC Scientific publication, n° 115, pp. 21-28.

THACKER H.L. and CARLTON W.W., 1977 - Ochratoxin A mycotoxicosis in the guinea-pigs. *Food Cosmet. Toxicol.* 15: 563-574.

UENO Y., 1985 - Biotransformation of mycotoxins in the reconstituted cytochrome P-450 system. *Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxicol.* 22: 28-30.

ULLRICH K.J., RUMRICH G., GEMBORYS M.W. and DEKANT W., 1991 - Renal transport and nephrotoxicity. *In:* Nephrotoxicity, P.H.Bach, N.J. Gregg, M. F. Wilks and L. Delacruz Eds. Dekker, London pp. 1-8.

VAN DER MERWE K.J., STEYN P.S. and FOURIE L., 1965a - Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxin A, B and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh. *J. Chem. Soc.*: 7083-7088.

VAN DER MERWE K.J., STEYN P.S. FOURIE L. and THERON J.J., 1965b - Ochratoxin A, ■ toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Nature*, London 205: 1112-1113.

VAN EGMOND H.P., 1991 - Worldwide regulations for ochratoxin A. In Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Castegnaro M., Plestina R., Dirheimer G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch H., eds. IARC Scientific publication, n° 115, pp. 331-336.

VUKELIC M., SOSTARIC ■. and FUCHS R., 1991 - Some pathomorphological features of Balkan endemic nephropathy in Croatia. *In* Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tract Tumours. Castegnaro M., Plestina R., Dirheimer G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch H., eds. IARC Scientific publication, n° 115, pp. 37-42.

WEI Y.H., LU C.Y., LIN T.N., and WEI R.D., 1985 - Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Toxicology* 36: 119-130.

WIGER R. and STORMER F.C., 1990 - Effects of ochratoxins A and B on prechondrogenic mesenchymal cells from chick embryo limb buds. *Toxicol. Lett.* 54: 129-134.